
[成果情報名] 牛受精胚の凍結前レスベラトロール処理による受胎率の向上

[要約] 凍結前にレスベラトロールを含む発生培地で牛受精胚を培養することにより、凍結・融解後の胚内MtDNA数の減少を抑制し、胚の活力を向上させることで、暑熱期を含む通年の胚移植において受胎率を向上させることができる。

[キーワード] 牛受精胚、受胎率、レスベラトロール、暑熱ストレス

[担当部署] 畜産部；大家畜チーム、生産環境部；バイオテクノロジーチーム

[連絡先] 092-925-5232

[対象項目] 牛

[専門項目] 繁殖

[成果分類] 新技術

[背景・ねらい]

牛胚移植において、長期保存のために凍結された受精胚は採取されたばかりの新鮮胚に比べて受胎率が低くなり、特に暑熱期ではこの問題が顕著である。これは凍結・融解後において胚内のミトコンドリア (Mt) DNA数が低下することにより、胚の活力が低下することが原因の一つと考えられている。一方で、レスベラトロールは細胞内のミトコンドリア合成を促進することが知られている。

そこで、レスベラトロールを用いて凍結胚融解後のMtDNA数の低下を抑制することにより、凍結胚移植でも一年を通して受胎率を向上できる繁殖技術を確立する。

[成果の内容・特徴]

1. 凍結前にレスベラトロール 1 μ Mを添加した培地で受精胚の培養処理を行うと受胎率が向上する。また、熱ストレスにより受胎率が低下する暑熱期にあっても通年と同等の効果が期待できる (図1)。
2. 凍結前にレスベラトロール培養処理を行うことにより、凍結融解後のMtDNA数の減少を抑えることができ (図2)、融解後の透明帯脱出率が向上する (図3)。
3. 融解直後に暑熱期を想定した6時間41 $^{\circ}$ C (通常38 $^{\circ}$ C培養) の高温負荷をかけても、凍結前レスベラトロール処理を行うことで透明帯脱出率を維持できる (図4)。

[成果の活用面・留意点]

1. 暑熱期を含む通年の受胎率を向上させることができ、子牛の生産効率を高めることができる。
2. レスベラトロール処理について、体外受精胚は24時間培養を行い、体内受精胚は6時間培養を実施した。
3. レスベラトロールの機能を維持するため、定期的 (月1回程度) にエタノールに融解したストックを作成し、冷凍保存 (-20 $^{\circ}$ C以下) する必要がある。

[具体的データ]

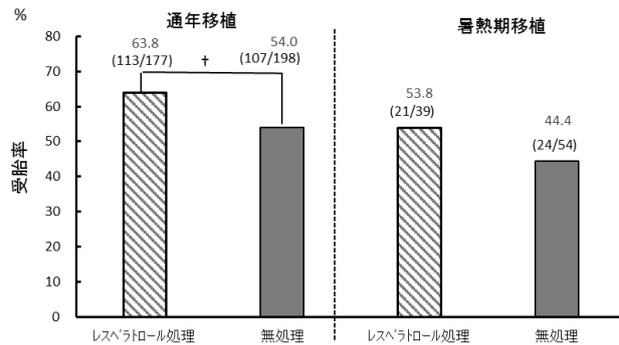


図1 凍結前レスベラトロール処理が通年または暑熱期移植における受胎率に及ぼす影響（平成27～29年）

- 注) 1. 暑熱期：7～9月。
 2. 体内胚（1胚）、体外胚（2胚）移植の合算。
 3. 凍結法は慣行による、培地はM199使用。
 4. †：P=0.0543（カイ二乗検定）。

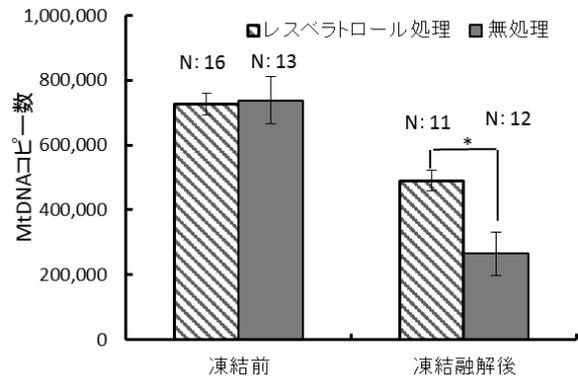


図2 凍結前レスベラトロール処理が体外受精胚の凍結前と融解後におけるMtDNA数に及ぼす影響（平成29年）

- 注) 1. 凍結法は慣行による、培地はM199使用。
 2. *：P<0.05（t検定）。

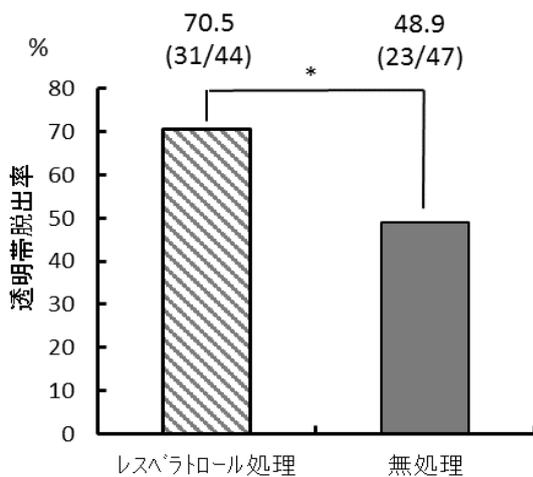


図3 体外受精胚において凍結前レスベラトロール処理が凍結融解後の透明帯脱出率に及ぼす影響（平成29年）

- 注) 1. 凍結法は慣行による、培地はM199使用。
 2. *：P<0.05（カイ二乗検定）。

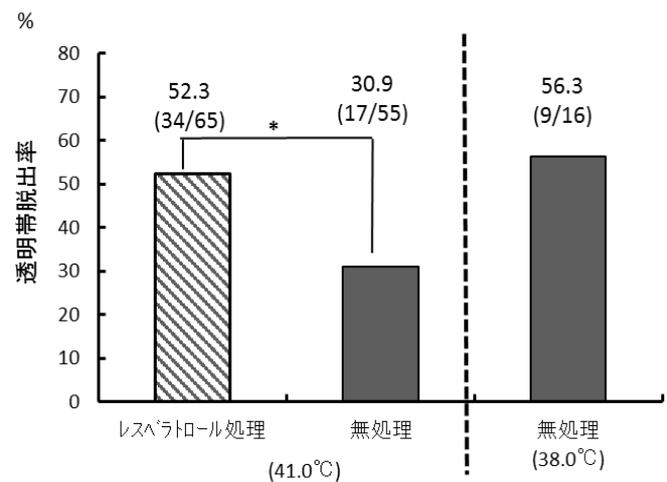


図4 体外受精胚の凍結前レスベラトロール処理が凍結融解後暑熱負荷(41℃、6時間)における透明帯脱出率に及ぼす影響（平成29年）

- 注) 1. 凍結法は慣行による、培地はM199使用。
 2. *：P<0.05（カイ二乗検定）。

[その他]

研究課題名：胚の耐暑熱性向上技術の確立

予算区分：経常

研究期間：平成30年度（平成27～30年）

研究担当者：林 武司、上田修二、森 美幸、稲田 淳、深水 大、柿原孝彦

発表論文等：Theriogenology (2018;15;106:271-278)